

桉树体内的生根抑制物质研究综述*

黄卓烈 林韶湘 谭绍满

摘要 对桉树内生生根抑制物 G 和“巨桉酚”,分别列出了化学结构和物理性质。分析对植物生根的抑制作用表明,随着茎叶组织成熟,G 含量上升;不同种类桉树和不同成熟度的组织,G 含量也不同,并有周期性的变化。在 10^{-4} M 时,抑制巨桉插条 30%~40%发根,但在 10^{-5} M 时,不表现有抑制作用;巨桉的幼苗随着茎节数增多,G 含量升高,在 12 节数时,生根率几为 0。两者的生理效应还有抑制种子萌发和叶片光合作用,具有生长素状活性,对气孔开放和水分散失的调节。还介绍了它们的提取和分离方法。

关键词 桉树、无性繁殖、内生生根抑制物质、巨桉酚

我国自 1890 年引种桉树(*Eucalyptus*)以来,至 1982 年已有 300 多种,已成为南方大面积造林的主要树种之一,桉树种苗需求量迅速增加。由于桉树是异花授粉的多年生植物,其有性过程的后代常常严重分离,树种的优良性状难于保留。因此,人们便试图用扦插方法进行无性繁殖。但用扦插方法难以发根。我国从 70 年代初期开始进行扦插试验,结果多以失败告终。经逐步研究发现桉树体内含有生根抑制物质,使桉树插条生根相当困难。

1 抑制物的种类及性质

1970 年,Paton 等^[1]首先研究桉树发根的生理学基础。结果认为,桉树枝条扦插发根能力极低与其体内发根抑制物的存在有关。随着枝条成熟度增加,体内发根抑制物含量相应升高。

由于这种生根抑制物存在于成熟的枝条内,因而用成熟枝条作插条就难以发根。在一些容易发根的桉树枝条中没有这种抑制物质。例如剥桉(*Eucalyptus deglupta* Blume)的茎中就不存在这种抑制物,因此其枝条扦插容易生根。Nicholls 等^[2]经研究,从巨桉(*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden)中分离出 3 种结构相近的化合物,分别称为 G₁、G₂ 和 G₃(“G”取自巨桉学名 *grandis* 的第一个字母)。其化学结构见图 1,物理性质见表 1。由于这 3 种化合物结构与纤维酮相近,因而 Nicholls 等人认为抑制物 G

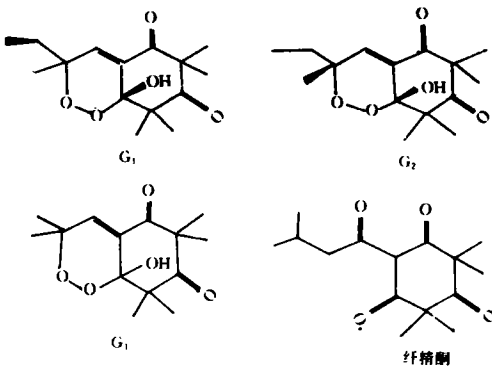


图 1 抑制物 G 的结构

1993-03-12 收稿。

黄卓烈副教授,林韶湘,谭绍满(华南农业大学 广州 510642)。

* 属广东省林业厅资助课题。部分植物中名由李秉滔教授拟订,谨表谢意。

可能是由纤精酮衍生而来的^[1]。

表 1 巨桉生根抑制物 G 的物理性质

抑制物	熔点(℃)	分子量	分子式	最大吸光波长 (nm)	克分子消光系数
G ₁	98.5	282.15	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	242(95%乙醇)	7 440
G ₂	127.8	282.15	C ₁₅ H ₂₂ O ₅		
G ₃	169~171		C ₁₄ H ₂₀ O ₅		

1977年, Crow等^[3]又从巨桉的成熟叶子中分离得到另一种生根抑制物质, 并将它命名为 grandinol。此种物质尚未有中文名。在此, 本文作者拟将它暂译为“巨桉酚”。其化学结构见图 2, 物理性质列于表 2 中。1984年, Bolte 等人又从艮叶山桉(*E. pulverulenta* Sims)的茎叶中分离出巨桉酚, 据此认为巨桉酚在大多数桉树中是普通成分^[4]。

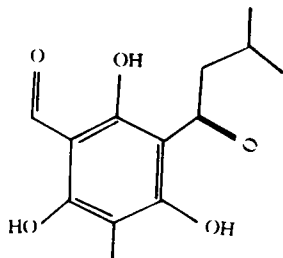


图 2 巨桉酚的结构

表 2 巨桉酚的物理性质

熔点(℃)	分子量	分子式	最大吸光波长(nm)	克分子消光系数
130~132	252.099 7	C ₁₃ H ₁₈ O ₅	278.345(乙醇)	27 700.380 0

2 抑制物的分布与含量

根据研究结果, 生根抑制物质大部分存在于成熟的茎和叶子中。茎和叶子越成熟, 抑制物 G 的含量越高。在幼嫩的枝叶中一般不含或只含极微量的生根抑制物。某些研究表明, 在 10 个节以内的幼态组织中一般不含或极少含有生根抑制物。超过 10 个节, 尤其是在 15 个节以上的组织内, 抑制物 G 出现, 且随着组织成熟度增加, G 含量上升。据研究, 抑制物 G 不会通过运输方式从成熟组织转移到幼态组织中去^[5], 即使将幼态组织与老态组织并列嫁接, 老态组织中的抑制物 G 也不会被运输到幼态组织中来。因为 G 是一类潜在的生根抑制物, 所以有人反过来认为, 幼态组织的一个可能功能便是保护幼苗根系不受 15 个节以上的老态组织的抑制物 G 的有害影响。Paton 等^[5]认为, 这种幼态组织中不含抑制物 G 的现象不仅在巨桉中如此, 在其它桉树也可能是普遍的, 但尚需作系统的调查研究。

不同种类植物 G 含量不同, 同一植物不同成熟度的组织, G 含量也不相同。例如在成熟叶子中, 巨桉含 G 量为 7 500 μg/g 鲜重, 大桉(*E. delegatensis* R. T. Bak.)为 12.0 μg/g 鲜重, 蜜味桉(*E. melliodora* A. Cunn. ex Schau)为 28.6 μg/g 鲜重, 而披针叶红千层(*Callistemon saligna* DC.)则是 15.6 μg/g 鲜重。巨桉的嫩叶中 G 含量为 18.6 μg/g 鲜重^[6]。可见, 各种植物含 G 量不同, 其中尤以巨桉含量为高, 不但成熟叶子有, 较嫩叶子也有。据计算, 巨桉的成熟叶子 G 含量可达到 500 μM/M²^[7]。在巨桉的幼苗中, 从顶端开始, 第二个节的叶片就可检出抑制物 G。随着叶位增加, 叶子内源抑制物 G 的含量相继上升, 如第 12 节叶片 G 含量接近 0.65 mg/g, 而第 14 节位叶子含 G 量竟接近 2.1 mg/g^[8]。

体内抑制物 G 的含量还表现出周期性的变化。一方面不同季节含量有不同, 另一方面一

天内其含量也有差异。据测定,夏季拂晓前,巨桉成熟叶子平均含 G 量约 3.3 mg/g,黎明后 2 h 约 3.7 mg/g,黎明后 4 h 又降至 3.5 mg/g 左右。在冬季,黎明前达 5.6 mg/g,黎明后 2 h 为 5.2 mg/g,黎明后 4 h 降至约 4.6 mg/g。据认为,其变化与光的作用可能有联系^[8],但具体情况还是个谜。

3 抑制物对植物生根的抑制作用

抑制物 G 的最显著生理效应就是抑制桉树及其它植物的生根。Nicholls 等^[2]用抑制物 G 处理从巨桉幼苗上取下的插条,发现在 10^{-4} M 时, G_1 、 G_2 、 G_3 分别抑制巨桉插条的 40%、30% 和 30% 发根,但在 10^{-5} M 时,不表现有抑制作用。用 G 处理绿豆胚轴,在 10^{-4} M 时, G_1 、 G_2 、和 G_3 均抑制了 80% 左右的发根,在 10^{-3} M 时,全部绿豆胚轴无法出根^[2]。如果 G 的浓度很低,例如在 10^{-6} M 以下,抑制发根的效果不明显,甚至对发根有轻微的促进作用^[2]。Dhawan 等^[6]也发现,在 G_1 浓度为 5×10^{-6} M 时,绿豆胚轴的发根(10.2 ± 1.3 条/株)比对照(6.9 ± 0.6 条/株)提高了 47.8%; G_1 浓度为 10^{-5} M 时,发根(17.0 ± 2.7 条/株)比对照提高 146.4%。 5×10^{-4} M 的 G_1 则对绿豆发根(1.0 ± 0.6 条/株)抑制了 85.5%。而当用 5×10^{-4} M G_3 时,生根数为 0,100% 受抑制;浓度降至 10^{-5} M 时,发根数为 26.2 ± 0.7 条/株,比对照提高 279.7%。 G_2 的情况也与 G_1 相似。Paton 等^[5]又发现,在巨桉中,幼苗茎节数越多,体内抑制物 G 的含量越高,几呈直线关系。而且随节数增多,由于 G 含量升高,插条生根百分率直线下降。在节数为 12 时,插条生根率几乎降至 0。剥桉是一种较易生根的桉树,当用 1 年生苗木的枝条作插条时,迅速生根,而用 5 年生以上苗木的枝条作插条时,生根就不太容易了。人们认为这种现象可能是其组织中抑制物作用所致^[7,9]。

抑制物 G 抑制生根的最低极限浓度较高(约 10^{-4} M),其生理学基础与激素的作用生理学基础有所不同。因为激素调节所需的浓度要比抑制物 G 低得多,只需极微量的激素就能起作用。虽然 G 的抑制最低极限浓度较高,但在某些桉树(如巨桉)组织中抑制物 G 的含量足以完全抑制自身形成不定根。

对于巨桉酚抑制发根的效应尚未进行深入研究。初步试验表明, 10^{-4} M 的巨桉酚便可抑制绿豆胚轴生根。详细情况有待进一步研究。

4 抑制物的其它生理作用

抑制物 G 和巨桉酚除了对植物生根有抑制作用外,有些研究结果还表明,它们还有其它生理效应。主要有如下几方面:

4.1 抑制种子萌发

Bolte 等^[4]用从良叶山桉中分离出来的巨桉酚处理独行菜的种子,表现出对其萌发有强烈抑制。 10 ppm 的巨桉酚便可抑制 50% 的独行菜种子萌发。Crow 等^[3]也报道, 10^{-5} M 的巨桉酚就表现出对独行菜种子萌发的抑制。

Paton 等^[1]报道,高浓度的抑制物 G_1 、 G_2 、 G_3 也能抑制独行菜种子萌发。这些迹象表明,如果对巨桉酚和抑制物 G 作进一步研究,有可能得到一种种子萌发的强烈抑制剂用于农林业生

产。

4.2 生长素状活性

在某种场合下,抑制物 G_1 、 G_2 、 G_3 具有类似生长素的活性^[10]。其主要表现在对燕麦胚芽鞘的伸长有促进作用。Dhawan 等^[6]发现,当使用 10^{-6} M 抑制物 G 处理燕麦胚芽鞘时,促进其伸长 23%,当 G 的浓度升至 7×10^{-6} M 时,促进伸长约 100%。G 浓度在 10^{-5} M 时,伸长开始受到抑制,而浓度升到 7×10^{-4} M 时,抑制伸长达 53.8%。可见抑制物 G 具有类似生长素的活性。关于这点,Barker 等^[11]就用低浓度(10^{-6} M)的 G 代替生长素配制培养基来促进巨桉茎外植体增加复芽形成。而 Dhawan 等^[3]也用 G 代替生长素来促进巨桉、紫薇(*Lagerstroemia indica* L.)和羊蹄躅(*Azalea mollis* Bl.)插条的发根。例如,当 G 浓度为 0.1 mg/g 时,羊蹄躅平均发根 19.6 ± 4.1 条/株,比对照 9.3 ± 2.1 条/株增加 110.8%;G 浓度为 0.5 mg/g 时,巨桉插条平均每株发根 7.9 ± 0.6 条,比对照 2.7 ± 1.1 条/株增加 192.6%。其作用比生长素还好得多。0.5 mg/g 的 G 使紫薇插条平均生根 8.3 ± 2.0 条/株,比对照 1.0 ± 0.3 条/株增加 7.3 倍。这种似相矛盾的现象确很有趣。

4.3 对叶片光合作用的抑制

据研究,抑制物 G_1 、 G_2 、 G_3 对叶细胞光合作用有明显的抑制。Sharkey 等^[12]用抑制物 G 处理从苍耳(*Xanthium strumarium* Linn.)分离出来的光合细胞,以观察 G 对其释放氧的影响,发现当 G 在 0.1 mM 和 0.3 mM 时,对氧释放有刺激作用。但当 G 浓度开至 0.5 mM 时,抑制了氧释放的 20%。为了研究 G 究竟影响电子传递(光反应)还是影响碳代谢(暗反应),他们在测定液中加入 1 mM 的对苜基醌,发现当无抑制物 G 存在时, O_2 释放量为 $260 \mu\text{mol}/(\text{mg Chl} \cdot \text{h})$,但当有 3 mM 的 G 存在时, O_2 释放量变为 $115 \mu\text{mol}/(\text{mg Chl} \cdot \text{h})$,说明抑制物 G 明显抑制光合作用的电子传递过程。据测定,菠菜叶绿体的非偶联电子传递链被 3 mM 的 G 抑制 60%,光系统 I 活性被抑制 60%。并发现,在没有解偶联剂存在时,G 可稍刺激光系统 I 的活性,而当有 NH_4Cl 存在时,G 可对光系统 I 引起轻微的抑制。奇怪的是,Yoshida 等^[13]发现,与从巨桉叶子中得到的抑制物 G 不同,人工合成的 G 对光合作用电子传递没有抑制作用。因此,如何解释这种现象还有待深入的研究。

4.4 G 对气孔开放和水分散失的调节

据研究, G_1 、 G_2 、 G_3 在叶子中可作为一种内源的抗蒸腾剂起作用,使枝条或插条叶子失水量减少。Paton 等^[14]发现,用不同浓度的 G 和脱落酸(ABA)处理绿豆胚轴和青桉(*E. rupicola* Johnson ex Blaxell)的插条,试验结果表明,G 和 ABA 浓度越大,插条有失水越少的趋势^[14],但作为一种抗蒸腾剂,G 的功能要比 ABA 小 5~10 倍。研究还发现,巨桉叶子中含有内源的 G 浓度越高,其叶子越不易萎蔫^[5]。

抑制物 G 能减少叶片水分散失的原因还未清楚。但研究表明,G 能降低气孔的开放程度^[10]。外源使用 G 的浓度越大,被处理叶子的气孔开放程度越小。例如,当 G 为 5×10^{-5} M 时,第一天观察到绿豆幼苗叶子气孔阻力为 22.7 ± 3.6 S/cm,比对照 12.2 ± 1.0 S/cm 增大 86.1%。当浓度升至 1×10^{-4} M 时,则气孔完全关闭。这点与 ABA 的作用相近似。

G 对气孔开放度的抑制,诚然对抗萎蔫有利,但对光合作用气体交换是不利的。把外源抑制物 G 饲喂给巨桉和苍耳的叶子,可降低其气孔的传导和同化率。气孔传导的降低不是同化率降低的原因。G 在 0.1 mM 时引起的同化下降与气孔的传导下降相平行;而在 1 mM 时,G

引起的传导下降要比同化下降快 3 倍^[12]。当然,各种植物气孔对 G 敏感度不同。例如巨桉就比苍耳敏感得多。要引起气孔关闭和降低光合同化作用,在苍耳中所用的 G 浓度要比在巨桉中高近一个数量级。

至于为什么 G 能增大气孔阻力从而减少水分散失的机理尚未清楚。但 Dhawan 等曾发现,G 可影响燕麦和甜菜对铷(⁸⁶Rb)的吸收。这可能暗示,G 对气孔的作用可能与影响膜的运输有关。

此外,有证据表明,G 的存在也与植物抗霜冻能力有关^[8]。

5 抑制物的提取与分离

抑制物 G 是一类由纤维酮衍生而来的双环化合物,可溶于汽油和乙醚中,对其提取和分离要使用有机溶剂进行。现将 Nicholls 等^[2]提取和分离抑制物 G₁、G₂、G₃ 的方法介绍如下:

将巨桉的成熟茎叶组织匀浆,用甲醇抽提。将所得样品液减压浓缩。在浓缩液中加入汽油,用力振摇后让其静置分层,即得两相(水相和汽油相),抑制物 G 存在于汽油相中。将汽油相浓缩后,用纤维素柱进行色谱分离。纤维素在装柱前用乙二醇和水(4:1)溶液浸泡。装柱后,将汽油相抽提物上柱,先用环己烷洗脱,G₁ 和 G₂ 即按顺序被环己烷洗脱出来。再用二乙醚进行第二次洗脱得 G₃。G₁ 和 G₂ 分别从不同的环己烷分部液中结晶析出,皆为无色晶体。G₃ 在苯中迅速结晶,也是无色晶体。

分离巨桉酚的难度较大,过程较复杂。现将 Bolte 等^[4]抽提分离巨桉酚的方法介绍如下:

将 400 g 巨桉的茎叶在甲醇(5 L)中研磨 2 h,并让之浸泡过夜。然后将甲醇抽提液浓缩至 1 L,加入 2 L 水,所得溶液用己烷萃取 5 次,每次用己烷 1.5 L。减压去除己烷得浓缩液,将此浓缩液放到硅胶层析柱(300 g)上,先用己烷(2 L)洗脱,再用己烷-乙基乙酸(9:1,1 L)洗脱,再用己烷-乙基乙酸(8:2,1 L)洗脱,最后用己烷-乙基乙酸(7:3,1 L)洗脱。收集 20 个 250 mL 分部。第十一个分部液(F₁₁)在 1 000 ppm 时对独行菜种子萌发有强烈抑制作用。将 F₁₁ 按图 3 的顺序再分离,最后才得到固体的巨桉酚。

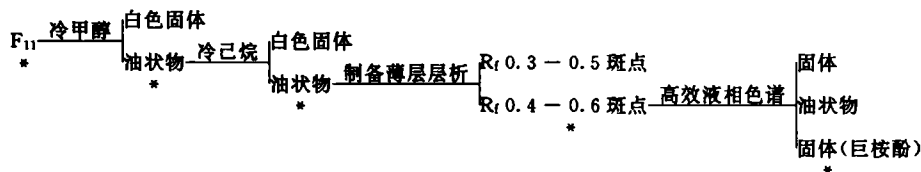


图 3 F₁₁有效成分分离程序

* 者表示对种子萌芽有抑制

参 考 文 献

- 1 Paton D M, Willing R R, Nicholls W, et al. Rooting of stem cuttings of *Eucalyptus*: A rooting inhibitor in adult tissue. *Aust. J. Bot.*, 1970, 18(2): 175~183.
- 2 Nicholls W, Crow W D, Paton D M. Chemistry and physiology of rooting inhibitors in adult tissue of *Eucalyptus grandis*. In: Carr D J(ed.). *Plant Growth Substances*. Berlin: Springer Verlag, 1970. 324~329.

- 3 Crow W D, Osawa T, Paton D M, et al. Structure of grandinol, A novel root inhibitor from *Eucalyptus grandis*. Tetrahedron Lett. ,1970, No. 12; 1 073~1 074.
- 4 Bolte M L, Bowers J, Crow W D, et al. Germination inhibitor from *Eucalyptus pulverulenta*. Agric. Biol. Chem. ,1984, 48(2);373~376.
- 5 Paton D M, Willing R R. Inhibitor transport and ontogenetic age in *Eucalyptus grandis*. In, Plant Growth Substance, Tokyo; Hirokawa Publishing Company, 1973. 126~132.
- 6 Dhawan A K, Paton D M, Willing R R. Occurrence and bioassay responses of G; A plant growth regulator in *Eucalyptus* and other *Myrtaceae*. Planta, 1979, 146; 419~422.
- 7 Davidson J. Reproduction of *Eucalyptus deglupta* by cuttings. N. Z. J. For. Sci. ,1974, 4; 191~203.
- 8 Bolte M L, Crow W D, Osawa T, et al. 2,3-Dioxabicyclo[4. 4. 0]decanes as plant growth regulators. In, Pestic. Chem. ; Hum. Welfare Environ. , Proc. Int. Congr. Pestic. Chem. , 5th, 1982, 2; 91~96.
- 9 Hartney V J. Vegetative propagation of the *Eucalyptus*. Austr. For. Res. , 1980, 10(3); 191~211.
- 10 Crow W D, Nicholls W, Sterns M. Root inhibitors in *Eucalyptus grandis*; Naturally occurring derivatives of the 2,3-dioxabi-cyclo[4. 4. 0] decane system. Tetrahedron Lett. , 1971, No. 18; 1 353~1 356.
- 11 Barker P K, De Fossard R A, Bourne R A. Progress towards clonal propagation of *Eucalyptus* species by tissue culture techniques. Proc. Int. Plant Prop. Soc. , 1978, 27; 546~556.
- 12 Sharkey T D, Stevenson G F, Paton D M. Effect of G, a growth regulator from *Eucalyptus grandis*, on photosynthesis. Plant Physiol. , 1982, 69; 935~938.
- 13 Yoshida S, Asami T, Kawano T, et al . Photosynthetic inhibitors in *Eucalyptus grandis*. Phytochemistry, 1988, 27(7); 1 943~1 946.
- 14 Paton D M, Dhawan A K, Willing R R. Effect of *Eucalyptus* growth regulators on the water loss from plant leaves. Plant Physiol. , 1980, 66; 254~256.

Review On the Rooting Inhibiting Substances in *Eucalyptus*

Huang Zhuolie Lin Shaoxiang Tan Shaoman

Abstract This paper reviews the types of rooting inhibitor G and grandinol, their distribution and content in *Eucalyptus* plants. The inhibiting effects of G and grandinol on the rooting of *Eucalyptus* and othef plants , on the germination of seeds, and on the photosynthesis of leaves, the regulating effect of G and grandinol on the openness and closure of plant stomata, and the auxin-like function of G and grandinol, are discribed. The seperation and purification methods of G and grandinol are also discribed.

Key words *Eucalyptus*, vegetative propagation, endogenous rooting inhibitor G, grandinol

Huang Zhuolie, Associate Professor, Lin Shaoxiang, Tan Shaoman (South China Agricultural University Guangzhou 510642).